

«Triple oedema» (tr. oe),
une mutation létale récessive
chez *Xenopus tropicalis*

par

Anne DROIN * et Brunella COLOMBELLI *

Avec 4 figures

ABSTRACT

“Triple oedema” (tr. oe), a recessive lethal mutation in *Xenopus tropicalis*. — “Triple oedema” (tr. oe) is a recessive mutation found in the offspring of a population of *Xenopus tropicalis* GRAY, collected in Adiopodoumé (Ivory Coast, Africa). The syndrome of the mutant tadpoles is characterized by the presence of two oedemata, appearing on the fourth day of development, one in the coelomic cavity, one in the region of the head and a third small one, appearing on the 5th day, in the anal region. The tadpoles die on the sixth day. Parabiosis experiments have shown that the fusion of a prospective mutant neurula with a normal one prevents the formation of the oedemata in the mutant parabiont revealing the physiological nature of the deficiency.

INTRODUCTION

Dans le cadre de l'étude systématique du genre *Xenopus* entreprise dans notre laboratoire, de nombreux croisements sont effectués au sein des différentes espèces et sous-espèces de *Xenopus*, ce qui favorise la découverte de mutations.

Xenopus tropicalis est une espèce originaire de l'Afrique de l'Ouest; les adultes sont de taille petite à moyenne (environ 5 cm). En outre, cette espèce est particulièrement intéressante au point de vue évolutif car elle ne possède que 20 chromosomes alors que les autres espèces de *Xenopus* en ont 36 ou plus (TYMOWSKA 1973, 1976, 1977).

Dans ce travail, le phénotype des têtards mutants est décrit de même que des expériences qui révèlent la nature physiologique de l'action du gène.

* Station de Zoologie expérimentale, 154, route de Malagnou, CH-1224 Chêne-Bougeries/Genève, Suisse.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Des adultes *Xenopus tropicalis* GRAY élevés en laboratoire ont été utilisés, la ponte et la fécondation provoquées selon GURDON (1967). Une centaine d'œufs sont conservés par croisement, triés par dizaine dans des récipients de Petri remplis d'eau d'aquarium (déchlorée); ils sont observés journallement et leurs stades de développement déterminés selon NIEUWKOOP et FABER (1956).

Pour l'histologie, les têtards sont fixés au Zenker, coupés à 6 μm et colorés à l'hémalum-éosine. Les parabioses ont été effectuées avec des neurulas (st. 18-20) dans la solution standard de Holtfreter.

RÉSULTATS

Génétique

Les têtards mutants sont apparus dans la F_2 , lors des croisements entre animaux de la F_1 . Les parents faisaient partie d'une population provenant directement d'Adiopodoumé en Côte d'Ivoire; ils sont morts avant d'avoir pu être testés pour la mutation.

Six différents croisements ont été effectués entre les adultes hétérozygotes de la F_1 ; ils ont donné 120 têtards homozygotes sur un total de 528 têtards, soit 22,7%, une ségrégation mendélienne récessive typique.

Description du phénotype

Le développement des têtards de *X. tropicalis* est rapide car ces animaux vivent à une température relativement élevée (environ 26°). Au 4^e jour du développement les

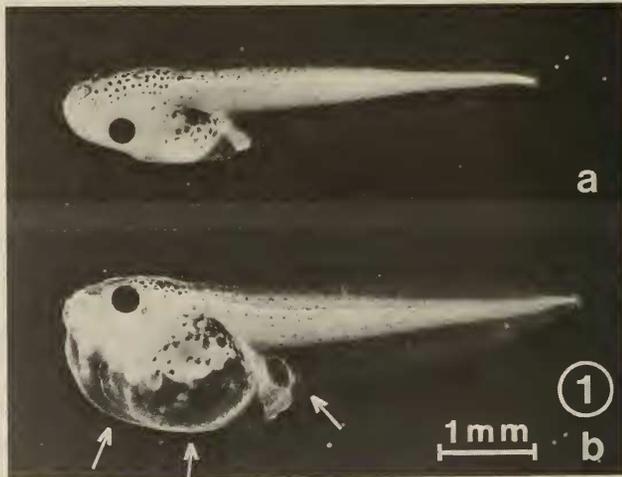


FIG. 1.

a) têtard normal au st. 45; b) têtard mutant au st. 46;
les flèches indiquent les 3 différents oedèmes.

têtards sont déjà au st. 44/45 et c'est à ce stade que les œdèmes se forment chez les mutants. Le premier qui apparaît englobe la cavité abdominale, de la région du cœur jusqu'à celle du rectum (Fig. 1). Les organes internes se développent normalement mais sont comprimés par la présence de l'œdème (Fig. 2). Les tubules pronéphrétiques, nor-

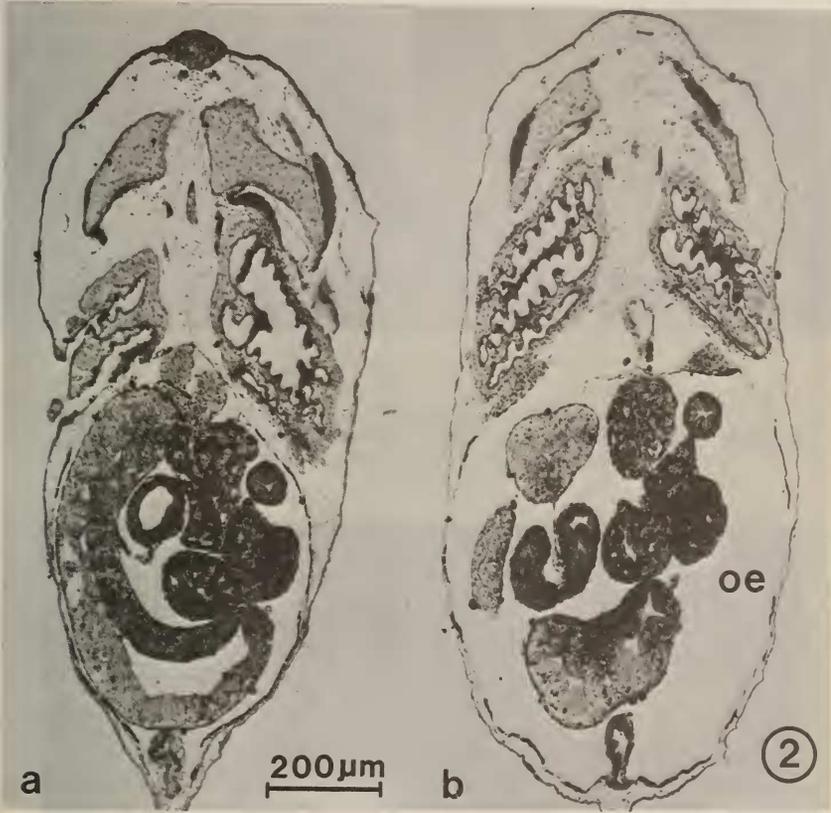


FIG. 2.

Coupes longitudinales de têtard normal (a) et mutant (b) au st. 45 montrant, chez ce dernier, l'œdème de la cavité générale qui entoure les organes internes; oe = œdème.

maux au début, sont aplatis entre le péritoine et la peau et, dans les stades plus avancés, ils sont également distendus par un œdème interne (Fig. 3).

Tandis que le premier œdème s'accroît rapidement, un second se forme dans la région des yeux qui s'étend ventralement et fait saillie en avant. Le 5^e jour, un troisième petit œdème apparaît dans la région anale (Fig. 1); le têtard prend une forme légèrement arquée, l'extrémité de la queue forme un petit crochet et le développement s'arrête. A partir du 6^e jour, les mutants meurent alors que les normaux sont au stade 46/47.

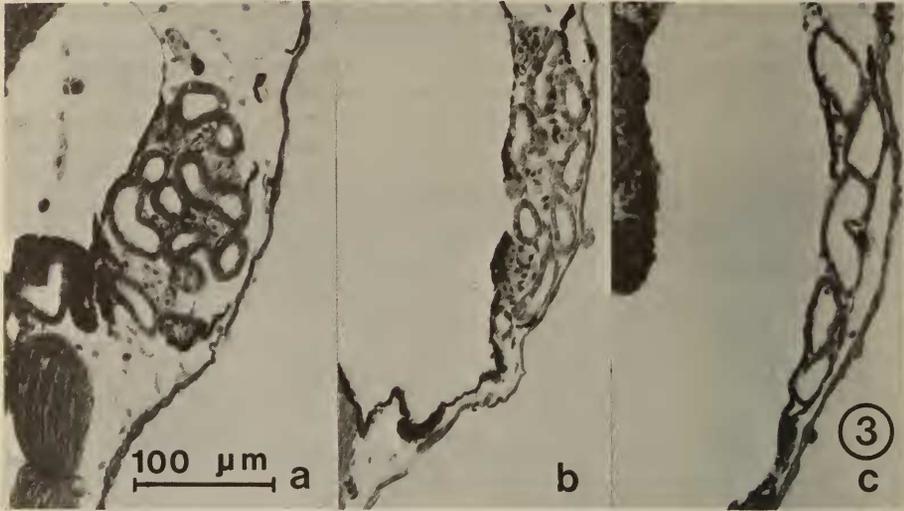


FIG. 3.

Coupes longitudinales passant par les pronéphros;
 a) tubules d'un têtard normal au st. 45; b) tubules aplatis d'un mutant au st. 45;
 c) tubules distendus d'un mutant au st. 46.

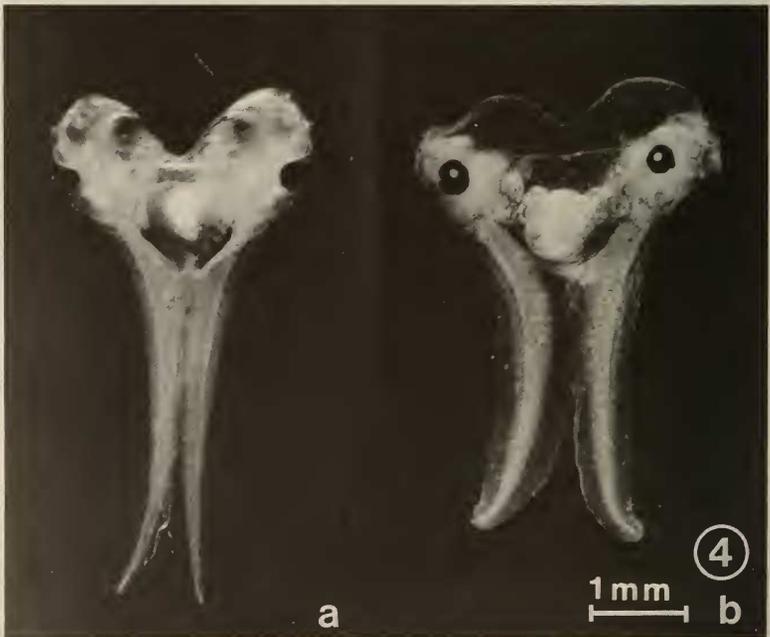


FIG. 4.

Paire de parabiontes normaux (a) et de parabiontes mutants (b).

TABLEAU I
Parabioses

Séries	Combinaisons	N° d'opérations réussies	Paires de parabioses			Contrôles non opérés n° et % de mutants (cr. tr.oe./+ x tr.oe./+)
			normales	mixtes	mutantes	
I	(+/+ x +/+) * et (tr.oe./+ x tr.oe./+) **	20	20	—	—	8/37 21,6%
II	(tr.oe./+ x tr.oe./+) et (tr.oe./+ x tr.oe./+)	23	20	—	3 (13%)	19/97 19,6%

* croisement qui ne donnera que des normaux.

** croisement qui donnera 25% de mutants

Parabioses

Comme l'analyse des mutants n'a révélé aucune anomalie, ni tissulaire ni cellulaire, sinon une distension des tubules pronéphrétiques, on pouvait attribuer la formation des œdèmes à des perturbations dans le fonctionnement des reins ou de la circulation sanguine (cf. Discussion dans DROIN, 1974). Pour vérifier cette hypothèse, des parabioses ont été effectuées dont les résultats sont résumés dans le tableau I.

Dans la première série, les parabioses ont été faites entre des neurulas provenant d'une part, d'un croisement qui n'a donné que des têtards normaux et, d'autre part, d'un croisement donnant théoriquement 1/4 de mutants. Les 20 opérations réussies consistaient en 20 paires normales (Fig. 4a); dans aucun cas, il n'a été trouvé de paires mixtes comprenant un normal et un mutant; dans le croisement qui a donné les mutants, on en a trouvé 8 sur 37 soit 21,6%.

Dans la seconde série, les neurulas provenaient toutes d'un même croisement dans lequel les contrôles non opérés ont donné 19 mutants sur 97 têtards, soit 19,6%. Parmi les paires de parabiontes, 3 sur 23 (13%) étaient des paires mutantes, les 2 parabiontes présentant le triple œdème caractéristique (Fig. 4b); ce pourcentage correspond approximativement ($X^2 = 1,802$) au pourcentage théoriquement attendu de 6,25% ($1/4 \times 1/4 = 1/16 = 6,25\%$).

DISCUSSION

Ces expériences montrent que la fusion d'un têtard normal avec un mutant permet de corriger la déficience de ce dernier et confirment ainsi la nature physiologique de l'action du gène. Ceci avait déjà été le cas pour les mutants « bloated-I » et « bloated-II » trouvés chez *Xenopus borealis* et *Xenopus muelleri* (DROIN & COLOMBELLI, 1982). Chez ces mutants-là, cependant, l'œdème apparaissait beaucoup plus tôt dans le développement au niveau du sinus pronéphrétique et son origine pouvait être expliquée par une déficience dans les échanges osmo-régulateurs prenant place entre le pronéphros et le sinus pronéphrétique adjacent. Il est plus difficile de comprendre le cas des mutants « triple œdema » car chez ceux-ci, les œdèmes se forment à un stade avancé du développement lorsque le cœur, les vaisseaux et les pronéphros ont déjà commencé à fonctionner normalement. Le moment où la déficience se manifeste pourrait correspondre, chez le têtard normal, à une nouvelle étape dans le fonctionnement de ces organes, étape qui serait sous le contrôle d'une ou de plusieurs enzymes et qui ne pourrait se réaliser en l'absence d'allèles normaux, ce qui provoquerait la formation des œdèmes chez les mutants.

Comme la quantité d'ADN est plus ou moins proportionnelle au nombre de chromosomes dans le genre *Xenopus* (THIÉBAUD & FISCHBERG, 1977) et que *X. tropicalis* ne possède que 20 chromosomes, on aurait pu s'attendre à trouver dans ce taxon une fréquence plus élevée du nombre de mutations que dans les autres espèces qui comprennent toutes des nombres chromosomiques entre 36 et 108 (cas plus ou moins anciens de polyploïdie). Or, malgré de très nombreux croisements effectués depuis plusieurs années, « triple œdema » est la première mutation découverte dans cette espèce.

RÉSUMÉ

« Triple œdema » (tr. oe.) est une mutation mendélienne récessive trouvée dans la descendance d'une population de *Xenopus tropicalis* provenant d'Adiopodoumé (Côte d'Ivoire). L'œdème de la cavité cœlomique se forme au 4^e jour du développement

lorsque les têtards normaux sont au stade 44/45. Un second œdème apparaît ensuite dans la région des yeux et un troisième, moins important, se forme le 5^e jour dans la région anale. Le développement s'arrête et les têtards meurent à partir du 6^e jour. Des expériences de parabioses ont montré que la fusion d'une neurula présomptive mutante avec une neurula normale inhibe la formation des œdèmes chez le parabionte mutant, révélant ainsi la nature physiologique de l'anomalie.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre gratitude au Professeur M. Fischberg pour son intérêt et à M^{lle} M. Quentin pour son aide technique. Ce travail a été exécuté grâce à une subvention du Fonds national de la Recherche scientifique (N° 3.775-1.80).

BIBLIOGRAPHIE

- DROIN, A. 1974. Trois mutations récessives létales, « dwarf-I » (dw-I), « dwarf-II » (dw-II) et « precocious oedema » (p.oe) affectant les têtards de *Xenopus laevis*. *Annls Embryol. Morph.* 7: 141-150.
- DROIN, A. and B. COLOMBELLI. 1982. "Bloated-1" and "bloated-2", two recessive mutations in *Xenopus borealis* and *Xenopus muelleri*. *Acta Embryol. Morph. exper., n. s.* 3: 117-126
- GURDON, J. B. 1967. African clawed toads. In: "Methods in Developmental Biology" (N. H. WILT and N. K. WESSELS, ed.). *Crowell Company, New York*: pp. 75-84.
- NIEUWKOOP, P. D. and J. FABER. 1956. Normal Table of *Xenopus laevis*. *North Holland Publishing Company, Amsterdam*, 252 pp.
- THIÉBAUD, C. H. and M. FISCHBERG. 1977. DNA content in the genus *Xenopus*. *Chromosoma* (Berl.) 59: 253-257.
- TYMOWSKA, J. 1973. Karyotype analysis of *Xenopus tropicalis* GRAY, Pipidae. *Cytogenet. Cell Genet.* 12: 297-304.
- 1976. A karyotype analysis of the genus *Xenopus* (Anura, Pipidae). *Thèse N° 1871, Genève*, 142 pp.
- 1977. A comparative study of the karyotypes of eight *Xenopus* species and subspecies possessing a 36-chromosome complement. *Cytogenet. Cell Genet.* 18: 165-181.